

二硫化碳自由基中间体的瞬态研究

简乐¹ 姚思德² 钱素平² 金中初¹

¹ (浙江大学医学院劳动卫生与环境卫生研究所 杭州 310006)

² (中国科学院上海应用物理研究所辐射化学实验室 上海 201800)

摘要 用激光光解和脉冲辐解瞬态吸收光谱技术研究了二硫化碳(CS₂)的光解和辐解反应机理及相应动力学特性。光解机理研究结果表明,CS₂在308nm激光下生成激发三线态,该三线态与基态CS₂反应产生自由基中间体,并测得了相关反应速率常数。应用脉冲辐解法进一步验证了光解中产生的CS₂阴、阳离子自由基。研究结果为CS₂对生物大分子的氧化性损伤假说提供了直接证据。

关键词 二硫化碳,激光光解,脉冲辐解

中图分类号 O621.25

二硫化碳(CS₂)是广泛应用于轻纺工业、化工、制药工业和实验室的常用有机溶剂。大量的流行病学、动物实验和临床研究表明,CS₂是一种亲血管亲神经毒物^[1-6]。体外实验发现^[6-8],CS₂在一定条件下有诱导产生超氧阴离子自由基(O₂⁻)和羟自由基(OH[•])作用。但是,其毒性机理迄今尚未阐明。研究手段的滞后使得CS₂的环境化学性质,尤其是瞬态光化学性质的研究仍为空白。

近年来,新建立的激光光解时间分辨吸收方法是定性定量研究光物理和光化学微观动态过程的最有效手段,特别适用于激发态和自由基的生成、衰减和演化过程的研究。脉冲辐解法与激光光解时间分辨吸收谱法相互补充,为瞬态产物的鉴别提供极大的便利。使用脉冲辐解可严格地创造纯净的氧化或还原过程,为研究CS₂自由基提供了十分有利的条件^[9,10]。本实验利用激光光解法研究CS₂在紫外光诱发下产生的激发态,以及激发态和基态反应的瞬态过程,同时采用脉冲辐解方法进一步确认和验证产生的阴、阳离子自由基,试图探索CS₂激发态的光氧化性质,为进一步研究CS₂在环境光诱导下对生物组织的损伤机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验设备

1.1.1 纳秒级激光光解瞬态吸收光谱装置与实验条件 中国科学院上海应用物理研究所辐射化学实验室纳秒级激光光解瞬态吸收光谱装置,激光器为氯

化氙(XeCl)准分子激光器,激发波长为308nm,脉冲宽度为20ns,单次脉冲最大能量为50mJ。分析光源为500W氙灯。仪器灵敏度为 1×10^{-3} OD值,信噪比30,测定瞬态粒子的时间分辨范围在75—500μs,测定波长范围在260—800nm。

1.1.2 纳秒级脉冲辐解瞬态吸收光谱装置与实验条件 脉冲辐射源为辐射化学实验室的10MeV电子直线加速器,电子脉冲宽度8ns,脉冲电流2—3A,单脉冲剂量10—40Gy可调。检测系统由纳秒级时间分辨吸收光谱及数据终端组成(中国科学院上海应用物理研究所研制),单脉冲剂量以法拉第筒为探测器,数字剂量计显示,并以空气饱和的10mmol/L硫氰酸钾(KSCN)水溶液的化学计量计为参比,取:

$$\varepsilon_{(\text{SCN})_2^{\cdot-}}(480\text{nm}) = 7600 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

石英样品池有效光程长为20mm,脉冲电子束与分析光相互垂直,分析光源为500W氙灯,单色仪波长可由计算机控制自动调节(260—800nm),瞬态记录仪的频率可调(最高频率为300MHz),取样频率为1GHz。以自编专用软件进行数据处理,获取瞬态吸收谱和动力学常数。

1.2 瞬态产物吸收光谱的检测

瞬态产物在波长λ处吸光度的变化为:

$$\Delta \text{OD}_{\lambda} = (\varepsilon_{\lambda} - \varepsilon_{G\lambda}) C L \quad (1-1)$$

式中, $\varepsilon_{G\lambda}$, ε_{λ} 分别为基态分子和瞬态产物的摩尔消光系数,C为瞬态产物的浓度,L为分析光通

浙江省自然科学基金(300470)资助

第一作者:简乐,女,1956年6月出生,2002年在浙江大学劳动卫生与职业病专业获博士学位,临床医学专业,副教授,副主任医师,硕士生导师

收稿日期:初稿 2003-05-16,修回 2003-07-21

过样品池的有效光程。瞬态记录仪记录下的电信号转换成吸光度须经如下换算：

$$\Delta OD_{\lambda} = -\log(1 - R \cdot V_{\lambda}/V_0) k \quad (1-2)$$

式中, R 为分流参数, 与电路的分流电阻有关, 设置为 $0.71:V_0$ 为加亮电压, 在本实验中随波长变化而变化; V_{λ} 为瞬态产物在波长 λ 处的光吸收所对应电信号的电压值; k 为归一化常数, 与单个脉冲计量有关, 即单一剂量除以平均剂量。

1.3 实验试剂

CS_2 、异丙醇 (Isopropanol)、过硫酸钾 (Potassium persulfate, $K_2S_2O_8$)、乙腈 (acetonitrile)、磷酸二氢钠 ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) 和磷酸氢二钠 ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) 等, 均为国产 A.R 级试剂。

$K_2S_2O_8$ 用 3 次蒸馏水配成母液。 CS_2 分别以乙腈和异丙醇配成母液 ($10\mu L/1mL$)。所有溶液都由母液用 3 次蒸馏水稀释配制。根据实验要求, 分别以高纯氮气 ($>99.99\%$) 或氧化亚氮 (N_2O) 鼓泡 20min, 以去除氧气或清除水合电子。磷酸盐缓冲液的 pH 值分别为 7.0 和 3.0。

2 结果和讨论

2.1 激光光解体系中 CS_2 激发三线态和自由基中间态瞬态产物的产生

图 1 为 $25.0mmol/L$ CS_2 的异丙醇—水溶液在 $308nm$ 激光光解后所得到的瞬态吸收谱, CS_2 经激光光解后在小于 $280nm$, $290-320nm$ 和 $350-420nm$ 之间分别有特征吸收峰, 其中小于 $280nm$ 的瞬态粒子寿命非常短, $290nm-320nm$ 的瞬态粒子在 $1-5\mu s$ 范围内衰减完毕, 而 $350-420nm$ 的瞬态粒子具有明显的生成过程, 其最大吸收 $380nm$ 波长处的生成过程见图 1 中的插图。

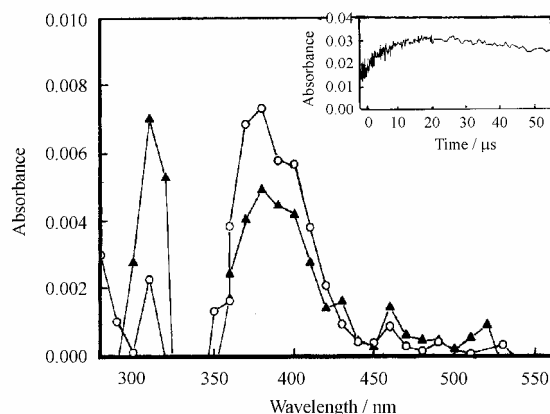


Fig.1 Transient absorption spectra of $25.0mmol/L$ CS_2 at $1\mu s$ and $5\mu s$ after the laser flash photolysis. $\blacktriangle$ $1\mu s$, $\circ$ $5\mu s$

分析 $380nm$ 处的瞬态吸收曲线, 在激光脉冲后 $0.1\mu s$ 即有瞬态产物生成, 然后随着时间的延长, 吸收逐渐增强, 到 $20\mu s$ 时达峰值, 此后又逐渐衰减。从图 1 插图可见, 该处瞬态吸收有两个过程: (1) 激光激发后的即时生成过程; (2) 与前面即时生成过程相比, 有一个相对缓慢的生成过程。前者可归结为激光诱导产生的 CS_2 激发三线态, 后者可归结为 CS_2 激发三线态与基态 CS_2 反应生成的激基络合物:



由于稳态 CS_2 在 $340nm$ 处有吸收, 且使用的 CS_2 浓度比较大, $340nm$ 左右的分析光无法透过样品。考虑到瞬时生成的 CS_2 的激发态在小于 $320nm$ 和大于 $350nm$ 处均有瞬态吸收, 故可推断 CS_2 激发三线态应在 $290-360nm$ 的波段范围内有特征吸收。在实验样品中以空气或氧气饱和, 就观察不到任何瞬态吸收, 这也可说明在激光光解中所观察到的瞬态产物应该源自 CS_2 激发三线。

为考察 $380nm$ 处生成的激基络合物动力学过程, 改变 CS_2 浓度, 发现 $380nm$ 处瞬态粒子的生成过程确实和基态 CS_2 浓度相关。图 2 为不同浓度 CS_2 (25.0 、 37.5 、 50.0 、 $62.5mmol/L$) 在 $380nm$ 处的瞬态吸收曲线。

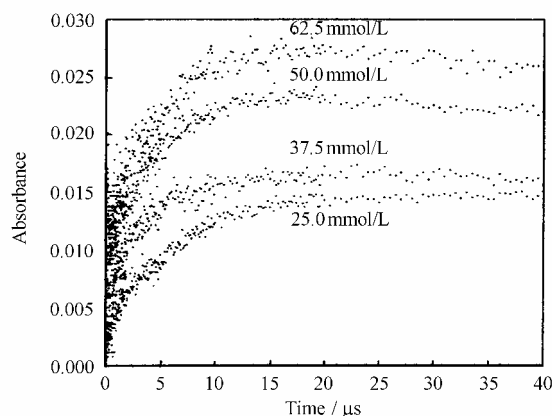


Fig.2 Transient absorption spectra of various CS_2 concentrations in the laser flash photolysis

对 $OD-t$ 曲线的动力学分析, 发现该产物生成速率随 CS_2 浓度增加。由不同浓度求出其相应的表现反应速率常数 (K_{obs}), 对 CS_2 浓度作线性图, 见图 3, 所得斜率即 CS_2 激发态与基态 CS_2 反应生成激基络合物的速率常数 K , 为准一级反应。

$$K = 5.26 \times 10^6 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1} \quad (2-4)$$

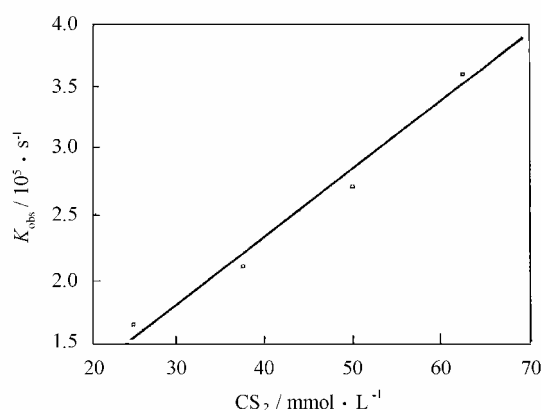


Fig.3 Relations between the observed rate constant and CS₂ concentrations

2.2 脉冲辐解体系中 CS₂ 瞬态自由基中间体的吸收特征

为进一步考证 CS₂ 激基络合物的后续反应是否生成 CS₂ 的阴、阳离子自由基, 采用脉冲辐解法产生 CS₂ 阴、阳离子自由基, 并观察其特征吸收。

图 4 为 20mmol/L CS₂ 在异丙醇:水=1:5 溶液、N₂ 饱和条件下脉冲辐解后所得到的瞬态吸收谱。在该溶剂条件下, 水首先辐解产生 OH·、H·自由基以及溶剂化电子(见反应式 2—5) OH· 和 H·自由基被异丙醇清除, 产生反应性较弱的异丙醇脱氢自由基(见反应式 2—6); 溶剂化电子进一步与 CS₂ 反应产生 CS₂^{·-}(见反应式 2—7)。图 4 中 290nm 附近有一个快速生成及随后衰减的瞬态吸收, 推测该特征吸收为 CS₂^{·-} 的吸收; 随 290nm 处产物的衰减在 330—400nm 附近有新的瞬态产物生成(见反应式 2—8); 推测可能为阴离子自由基经质子化后生成的中性自由基(见反应式 2—9)。图 4 的插图为该溶液脉冲辐解后在 290nm 处观测到的 CS₂^{·-} 随时间变化的曲线。

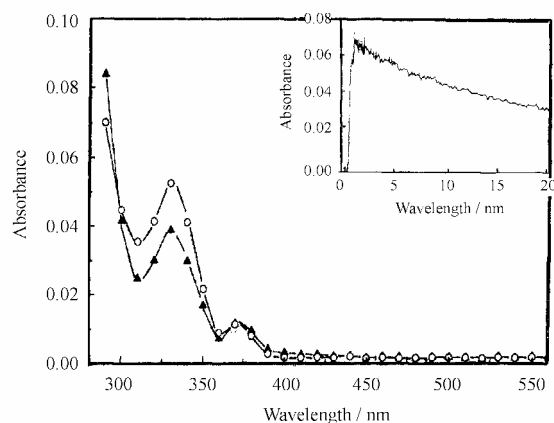


Fig.4 The transient absorption spectra of CS₂ anion radical in an isopropanol solution pulse radiolysis. ▲ 1μs, ○ 5μs

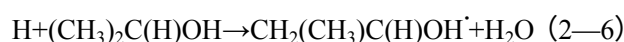
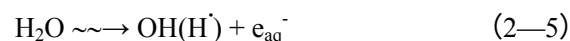


图 5 为 20mmol/L CS₂, 100mmol/L K₂S₂O₈ 在异丙醇:水=1:5 的溶液中, N₂ 饱和条件下脉冲辐解后所得到的瞬态吸收谱。在该溶剂条件下, 水辐解产生的 OH· 自由基、H· 自由基被异丙醇清除。生成反应性较弱的异丙醇脱氢自由基(见反应式 2—6); 溶剂化电子进一步与 S₂O₈²⁻ 反应产生 SO₄^{·-} 自由基(见反应式 2—9); SO₄^{·-} 自由基可以进一步氧化 CS₂ 产生 CS₂^{·+}(见反应式 2—10)。图 5 中 300nm 附近的瞬态吸收可归结为 SO₄^{·-} 自由基氧化 CS₂ 生成的阳离子自由基; 随 300nm 处阳离子自由基吸收的衰减在 320—330nm 有新瞬态产物生成, 可归结为 CS₂^{·+} 转换产生的二硫三电子键自由基。图 5 插图为该溶液脉冲辐解后在 300nm 处观测到的 CS₂^{·+} 随时间变化的曲线。

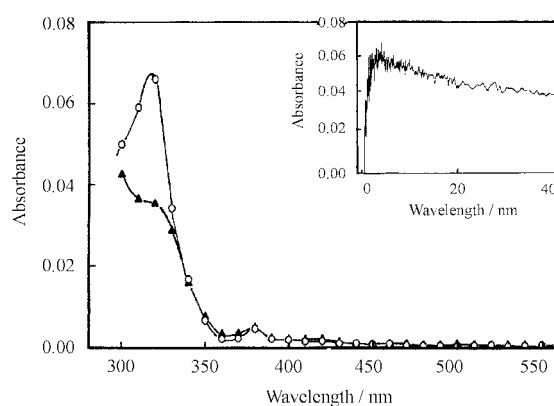


Fig.5 Transient absorption spectra of CS₂ cation radical in an isopropanol-K₂S₂O₈ solution pulse radiolysis ▲ 1μs, ○ 5μs



对 10mmol/L CS₂, 200mmol/L 乙腈(CH₃CN) 水溶液作脉冲辐解, 所得瞬态吸收谱见图 6。在该溶剂条件下, 水溶液中水合电子与 CH₃CN 反应的速率常数为 4.3×10⁷ mol⁻¹ L s⁻¹ [11], 水溶液辐解产生的水合电子基本被乙腈所清除, 脉冲辐解后溶液中的原初粒子为氧化性的·OH。辐照后根据时序不同主要有两处吸收(1. 290nm 左右; 2. 320nm 左右), 见图 6 中的插图。其中, 290nm 处有一快速生成过

程, 对应于 CS_2 与 $\text{OH}\cdot$ 的加成反应产生加成自由基过程的吸收, $1.2\mu\text{s}$ 后是一衰减过程; 320nm 处有两个生成过程, 其中快过程与 290nm 处生成过程同步, $1.2\mu\text{s}$ 后对应于 290nm 处的衰减又出现了相对慢的生成过程。此外, 实验发现这些吸收及变化与溶液的 pH 值有关, 酸性环境中瞬态粒子的生成明显多于中性环境。经分析认为 320nm 处第二步产物的生成过程应为 CS_2 羟基加成自由基 $[\text{CS}_2(\text{OH})\cdot]$ 经质子化后, 进一步脱水生成 CS_2^{++} 的过程。通过对 290nm 处的快速生成过程进行准一级动力学模拟, 得到 $\text{OH}\cdot$ 与 CS_2 反应速度在 $7.23 \times 10^9 \text{mol}^{-1} \text{L s}^{-1}$ 与文献报道 $8.3 \times 10^9 \text{mol}^{-1} \text{L s}^{-1}$ 相似^[12]。

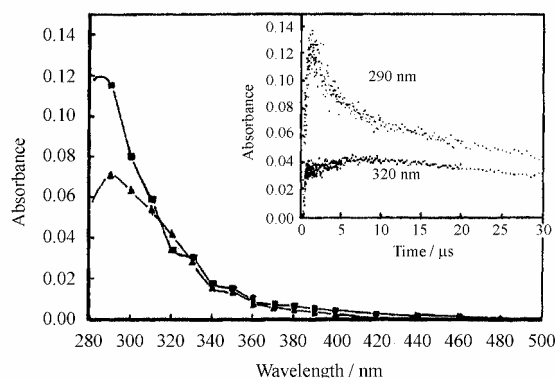
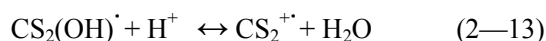
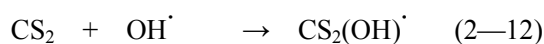


Fig.6 The transient absorption spectra of hydroxyl addition CS_2 radical and cation radical in an acetonitrile solution pulse radiolysis $\blacktriangle 2\mu\text{s}$, $\blacksquare 5\mu\text{s}$

CS_2 与 $\text{OH}\cdot$ 的反应及 $\text{CS}_2(\text{OH})\cdot$ 的后继脱水反应可用如下反应式表示:



实验结果表明, 在异丙醇脉冲辐解体系中 CS_2 阴离子自由基吸收在 300nm 左右, 阳离子自由基的瞬态特征吸收在 320nm , 而乙腈脉冲辐解体系中, CS_2 的初始生成活性物 $[\text{CS}_2(\text{OH})\cdot]$ 经质子化后的快速脱水, 生成在 320nm 附近有寿命较长的 CS_2^{++} 瞬态吸收。与激光光解结果相比较可以推测, 300nm 附近的瞬态吸收既有 CS_2 激发态, 也可能有其阴、阳离子自由基的贡献。

3 结 论

本文利用纳秒级激光光解动态吸收光谱装置研

究了 CS_2 水溶液中的光解反应机理, 首次观察到 CS_2 激发三线态及其与基态 CS_2 反应生成的自由基中间体的瞬态吸收光谱, 并进一步应用脉冲辐解法验证了光解反应生成的阴阳离子自由基及其它自由基中间体, 为 CS_2 光氧化损伤生物靶分子假说提供了直接证据。

致谢 在进行脉冲辐解和激光光解的研究中得到张文龙、屠铁城等同志的帮助, 在此表示衷心感谢。

参考文献

- 1 Beanchamp R O Jr, Bus James S, Popp James A *et al.* CRC Crit Rev Toxicol, 1983, **11**(3): 169-278
- 2 张文昌. 中国公共卫生学报, 1992, **11**(4): 245-252
ZHANG WENCHANG. Chinese J Public Health, 1992, **11**(4): 245-252
- 3 张文昌, 涂荔卿. 卫生毒理学杂志, 1998, **12**(1): 13-16
ZHANG Wenchang, TU Liqing. J Health Toxicol, 1998, **12**(1): 13-16
- 4 江晓东, 简乐, 胡迪生. 中华预防医学杂志, 2000, **34**(6): 348-350
JIANG Xiaodong, JIAN Le, HU Disheng. Chinese J Prevent Med, 2000, **34**(6): 348-350
- 5 JIAN L, HU D S. Int Arch Occup Environ Health, 2000, **73**(7): 503-506
- 6 JIAN L, CHIANG H. Luminescence, 2001, **16**(4): 291-293
- 7 JIAN L. Luminescence, 2001, **16**(4): 281-283
- 8 简乐. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, **19**(2): 112-114
JIAN Le. Chinese J Ind Hygiene Occup Dis, 2001, **19**(2): 112-114
- 9 罗勤惠, 沈孟长. 郑荣梁主编. 自由基生命科学进展. 第5集. 北京: 原子能出版社, 1997. 43-45
LUO Qinhui, SHEN Mengchang. Edited by Zhen R L. Advances in free radical life sciences. Vol.5. Beijing: Nuclear Energy Press, 1997. 43-46
- 10 WANG W F, LU J, YAO S D *et al.* Radiation Phys Chem, 1993, **42**(6): 985-988
- 11 Afanassiev A M, Okazaki K, Freeman G R. Can J Chem, 1979, **57**(1): 39-45
- 12 Roebhe W, Schoeneshoefer M, Henglein A Z. Naturforsch. T B. 1973, **28**(1): 12-22

Transient study of intermediate free radicals of carbon disulfide

JIAN Le¹ YAO Side² QIAN Suping² JIN Zhongchu¹

¹(Institute of Occupational and Environmental Health, Zhejiang University, Hangzhou 310006)

²(Laboratory of Radiation Chemistry, Shanghai Institute of Applied Physics,
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

ABSTRACT Laser flash photolysis technique was used to study photo-chemical mechanism of CS₂ under the excitation of 308nm laser and determine related rate constant involved in excitation of carbon disulfide (CS₂). The laser flash photolysis showed that the excited triplet of CS₂ could be quenched by its ground state to generate CS₂ free radical intermediates. Meanwhile, rate constant for the quenching was also obtained. The radical cation and anion of CS₂ produced in laser flash photolysis were further confirmed by pulse radiolysis with their characteristically transient absorption. Results presented in this paper may support the direct evidence for the hypothesis of CS₂ oxidative injury to biologic tissue.

KEYWORDS Carbon disulfide, Laser flash photolysis, Pulse radiolysis

CLC O621.25